

抗微生物剤の生体内動態に関する研究

— Tetracycline-l-methylenelysine について —

北 本 治・深 谷 一 太

東大伝研内科 (主任 北本 治教授)

(昭和 39 年 7 月 22 日受付)

I. ま え が き

Tetracycline-l-methylenelysine (ML-TC) は 1959 年イタリーで合成された新しいテトラサイクリン (TC) 誘導体で, TC と l-リジンとを作用させることによつてえられる物質である。本剤はとくに溶解度が高く, とくにアルカリメジウムにおいてすぐれているので, 腸管内で沈澱をつくらず吸収がよく, 経口投与において TC に比して高い血中濃度がえられるといわれている。今度本剤について TC と比較しつつ 2, 3 の検討を試みたのでその成績について報告する。

II. 成 績

1. 各種細菌に対する感受性

薬剤を倍数希釈し, 寒天平板培地を用いた劃線塗抹法によつて, *Staphylococcus aureus* 13 株, *Shigella* 12

第 1 表 ML-TC と TC との各種細菌に対する感受性値 (希釈法)

菌 種	株数	ML-TC mcg/ml	TC mcg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> 化膿巣分離 13 株	5	100<	100<
	2	50	50
	1	1.56	1.56
	1	0.78	0.78
	4	0.39	0.78
<i>Shigella</i>	1	100<	100<
	4	3.13	3.13
	1	1.56	1.56
	1	6.3	3.13
	3	3.13	1.56
	2	1.56	3.13
<i>Salm. para.B</i>	1	100	100
<i>Salm. enteritidis</i>	1	6.3	3.1
<i>E. coli</i>	3	100<	100<
	1	6.3	12.5
<i>Klebsiella</i>	1	12.5	12.5
	1	3.13	3.13
<i>Enterococcus</i>	1	100<	100<

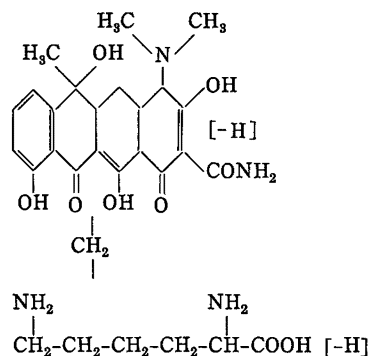
株, *E. coli* 4 株, *Salmonella* 2 株, *Klebsiella* 2 株, *Enterococcus* 1 株に対する感受性値を測定した。第 1 表の如く, ML-TC と TC とでは, 感受性菌のうち 1 段階希釈の相違を示すものが若干あつたが, 先ず相等しい抗菌力を有するものと思われた。

2. 試験管内耐性獲得試験

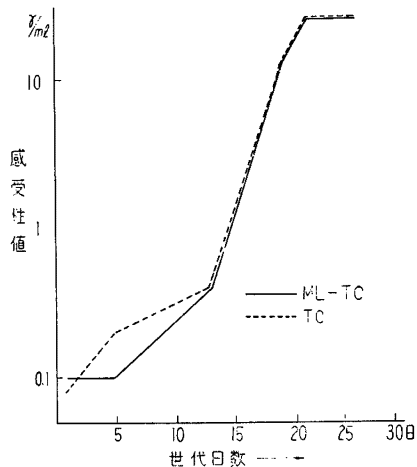
ML-TC と TC とについて, プイオン継代培養により型の如く耐性獲得の状態を検索したところ, 第 2 図の如く最初の感受性値 0.1 mcg/ml から出発して 20 代にてともに 12.5 mcg/ml となり 2 剤間には差を認めなかつた。

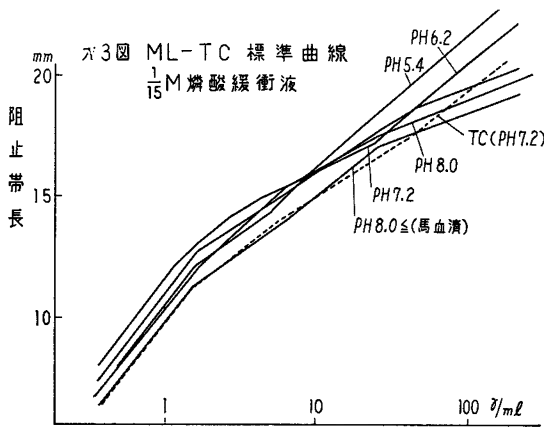
3. 標準曲線の作製

第 1 図 Tetracycline-l-methylenelysine の構造式



第 2 図 耐性獲得試験





209 P を試験菌とする重層法により作製した 1/15 M 磷酸緩衝液の pH を 5.4 ないし 8.0 と変え、また馬血清 (pH 8.0 ≦) 希釈により試みたときの曲線は第 3 図の如くで、薬剤濃度の異なる方では酸性側で阻止帯がやや長くなるようであったが、10 mcg/ml あたりでは全く差なく、それ以下の濃度では明瞭でなかつた。

ML-TC の力価はすべて TC に換算して示すため、以下の実験では TC 塩酸塩をもつて標準曲線を作製して使用した。

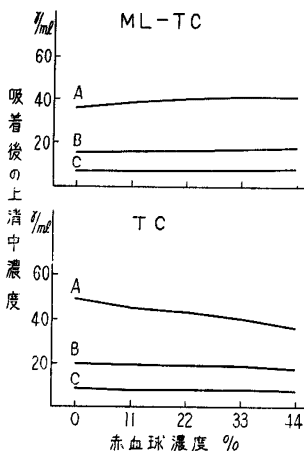
4. 赤血球吸着性

ヒト赤血球生理食塩水浮游液の各種濃度段階のもの、薬剤の段階希釈液 A, B, C とを組合わせて、型の如く作用せしめ、遠沈した上清中の濃度を示すと、第 4 図の如くであり、吸着後の上清中濃度の低下が、赤血球濃度の濃厚な方において ML-TC より TC の方に大であり、吸着性は ML-TC の方が幾分小であると思われた。

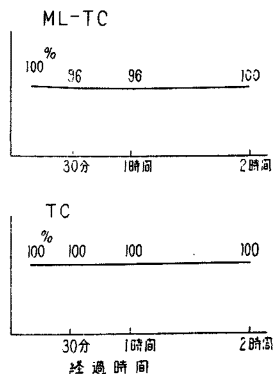
5. 肝臓による不活化

マウス肝臓を磷酸緩衝液で 10 倍相当に希釈してホモジナイズし、薬剤の 3 段階の濃度溶液と合わせて 37 °C におき、経時的にとり出して煮沸、遠沈した上清につい

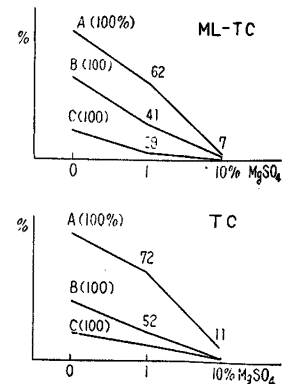
第 4 図 赤血球吸着
A, B, C: 薬剤濃度段階



第 5 図 肝臓による不活化



第 6 図 MgSO₄ 溶液による力価低下
A, B, C: 薬剤濃度段階



第 2 表 セロファン囊による透析
透析後の外液中濃度の比較

		ML-TC mcg/ml	結合率 (%)
Exp. 1	対 緩 衝 液	24	3.8
	対 血 液	15	
	対 清	13	
2	対 緩 衝 液	13	3.1
	対 血 液	9	
	対 清	8	
3	対 緩 衝 液	8	4.0
	対 血 液	4.8	
	対 清		
T C			
Exp. 1	対 緩 衝 液	21.5	7
	対 血 液	20	
	対 清	16	
2	対 緩 衝 液	16	6.6
	対 血 液	15	
	対 清		

て濃度測定を行なつた成績の平均値をとると、第 5 図の如くで、ML-TC, TC とも 2 時間後に到るまで力価の低下を認めず、不活化をうけにくいものと思われた。

6. セロファン囊による透析

薬剤の磷酸緩衝液による段階希釈液をセロファン囊を用いて、馬血清および同上緩衝液を内液として透析したのち、外液中濃度を測定し、結合率を算定すると第 2 表の如く、ML-TC では 31 ないし 40 %, TC では約 7 % となり、ML-TC の方が血清蛋白との親和性が大であることが示された。

7. MgSO₄ 溶液による力価低下

第 6 図の如く、10 %, 1 % MgSO₄ 溶液と溜水に薬剤の 3 種の希釈段階 A, B, C を接触させ 1 時間後にその濃度を測定すると、ML-TC, TC とも著明に力価の低下を認めた。

8. 臓器内濃度

健康マウス ddD 系 (性統一) に、薬剤を胃内に注入投与し、経時的に 1 群 3 匹宛について各臓器および盲腸内容を取り出し、溜水にて 10 倍希釈ホモジナイズし、煮沸除蛋白し、遠沈上清について濃度を測定した。

第3表 テトラサイクリン誘導体の臓器内濃度の消長
マウスに 200 mg/kg 経口投与

	30 分後 (mcg/g)	1 時間後 (mcg/g)	3 時間後 (mcg/g)
肝	ML-TC 5.3	ML-TC 24	ML-TC 10
	TC 11.5	TC 12.3	TC 7.2
脾	ML-TC 0	ML-TC 3.6	ML-TC 1.2
	TC 7.5	TC 5.4	TC 1.2
腎	ML-TC 6.5	ML-TC 16	ML-TC 4.0
	TC 10.0	TC 15	TC 4.7
肺	ML-TC 1.0	ML-TC 3.9	ML-TC 7.5
	TC 3.0	TC 8.5	TC 2.7
脳		0	0
		0	0
盲腸		ML-TC 340	ML-TC 440
		TC 155	TC 500
血清	(mcg/ml)		
	ML-TC 3.1	ML-TC 10.4	ML-TC 4.4
	TC 2.8	TC 4.4	TC 2.4

第5表 テトラサイクリン誘導体の臓器内濃度の消長
マウスに 200 mg/kg 経口投与

	1 時間後 (mcg/g)	2 時間後 (mcg/g)	5 時間後 (mcg/g)
肝	ML-TC 4	ML-TC 7.4	ML-TC 7.2
	TC+glucosamine 4.2	TC+glucosamine 33	TC+glucosamine 16
脾	ML-TC 7.8	ML-TC 2.1	ML-TC 2.1
	TC+glucosamine 2	TC+glucosamine 6.2	TC+glucosamine 2.6
腎	ML-TC 2.9	ML-TC 5.4	ML-TC 2.8
	TC+glucosamine 4.1	TC+glucosamine 20	TC+glucosamine 2.5
肺	ML-TC 31	ML-TC 46	ML-TC 1.7
	TC+glucosamine 64	TC+glucosamine 380	TC+glucosamine 1.4
盲腸	0	ML-TC 120	ML-TC 4000
	0	TC+glucosamine 580	TC+glucosamine 5000
血清	ML-TC 1.3	ML-TC 4.0	ML-TC 0.5
	(mcg/ml)	TC+glucosamine 4.4	TC+glucosamine 1.8
	TC+glucosamine 2.3		

(i) ML-TC と TC との比較実験

ML-TC と TC とを比較すべく、200 mg/kg 宛を経口投与した成績は第3表の如くであり、ML-TC の方が肝、腎においては TC より高く、血中濃度も高かつたが、肺、脾では逆に低い値を得た。

(ii) ML-TC と TC+Benecid 投与との比較

ペニシリンなどの血中濃度を維持する作用のある Benecid を 400 mg/kg 程度経口投与して1時間後に TC を投与した群と、ML-TC 投与群とについて臓器内濃度の消長を比較したところでは、第4表の如くで Benecid はあまり影響を及ぼさないようであり、(i)と大差のない傾向を得た。

第4表 テトラサイクリン誘導体の臓器内濃度の消長
マウスに 150 mg/kg 経口投与

	30 分後 (mcg/g)	1 時間後 (mcg/g)	3 時間後 (mcg/g)
肝	ML-TC 2.2	ML-TC 9.5	ML-TC 1.5
	TC+Benecid 3.4	TC+Benecid 3.0	TC+Benecid 1.1
脾	ML-TC 0	ML-TC 0	0
	TC+Benecid 1.5	TC+Benecid 1.9	0
腎	ML-TC 1.2	ML-TC 3.9	0
	TC+Benecid 1.1	TC+Benecid 2.6	0
肺	ML-TC 1.6	ML-TC 6.0	0
	TC+Benecid 22	TC+Benecid 8.7	0
盲腸		ML-TC 0	ML-TC 380
		TC+Benecid 8.7	TC+Benecid 1100
血清	(mcg/ml)		
	ML-TC 1.0	ML-TC 1.8	0
	TC+Benecid 1.3	TC+Benecid 1.8	0

第6表 テトラサイクリン誘導体の臓器内濃度の消長
マウスに 300 mg/kg 経口投与

	30 分後 (mcg/g)	1 時間後 (mcg/g)	3 時間後 (mcg/g)
肝	ML-TC 16.5	ML-TC 33	ML-TC 16
	TC+glucosamine 53	TC+glucosamine 44	TC+glucosamine 36
脾	ML-TC 4.7	ML-TC 11.8	ML-TC 5.5
	TC+glucosamine 11	TC+glucosamine 13	TC+glucosamine 11
腎	ML-TC 8.0	ML-TC 18.5	ML-TC 8.3
	TC+glucosamine 17	TC+glucosamine 24	TC+glucosamine 13
肺	ML-TC 19	ML-TC 7.7	ML-TC 4.3
	TC+glucosamine 59	TC+glucosamine 15	TC+glucosamine 8.6
盲腸		ML-TC 37	ML-TC 270
		TC+glucosamine 107	TC+glucosamine 320
血清	ML-TC 7.8	ML-TC 11.0	ML-TC 4.4
	(mcg/ml)	TC+glucosamine 10.2	TC+glucosamine 7.0
	TC+glucosamine 12.2		

(iii) ML-TC と TC+Glucosamine 投与との比較

TC などの吸収を高め、血中濃度上昇作用のあることで知られている Glucosamine を TC と同時に 300 mg/kg 経口投与して、ML-TC と比較検討した。第5表は 200 mg/kg の TC 剤を、第6表は 300 mg/kg の TC 剤を胃内に注入投与して比較したものであるが、ともに TC+Glucosamine 群で肝、腎の濃度が (i) の場合と逆になり、ML-TC 群を凌駕する高値を得た。すなわち著者の条件では、ML-TC よりも TC+Glucosamine 群は全臓器内濃度および同時に測定した血中濃度におい

第7表 テトラサイクリン誘導体の臓器内濃度の消長 マウスに 200 mc/kg 経口投与

	30 分後 (mcg/g)	1 時間後 (mcg/g)	3 時間後 (mcg/g)
肝	ML-TC+Benecid 6.9	ML-TC+Benecid 8.8	ML-TC+Benecid 15.5
	TC+glucosamine 14.2	TC+glucosamine 19.5	TC+glucosamine 10.8
脾	ML-TC+Benecid 0	ML-TC+Benecid 0	ML-TC+Benecid 4.2
	TC+glucosamine 4.2	TC+glucosamine 5.4	TC+glucosamine 4.7
腎	ML-TC+Benecid 4.0	ML-TC+Benecid 4.4	ML-TC+Benecid 5.9
	TC+glucosamine 5.7	TC+glucosamine 9.2	TC+glucosamine 4.9
肺	ML-TC+Benecid 0	ML-TC+Benecid 0	ML-TC+Benecid 0
	TC+glucosamine 4.3	TC+glucosamine 4.0	TC+glucosamine 3.6
盲腸		ML-TC+Benecid 0	ML-TC+Benecid 440
		TC+glucosamine 160	TC+glucosamine 1100
血清	ML-TC+Benecid 2.1 mcg/ml	ML-TC+Benecid 2.3	ML-TC+Benecid 2.7
	TC+glucosamine 3.2	TC+glucosamine 3.3	TC+glucosamine 2.6

第8表 ML-TC の臓器内濃度 Oxyphenbutazone の影響 ML-TC マウスに 200 mg/kg 経口投与

	1 時間後 mcg/g	2 時間後 mcg/g	4 時間後 mcg/g
肝	ML-TC 5.3	ML-TC 12.5	ML-TC 44
	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 5.4	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p.32	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 8.4
脾	ML-TC 2.7	ML-TC 4.4	ML-TC 9.2
	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 6.8	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p.10	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 2.5
腎	ML-TC 5.3	ML-TC 5.2	ML-TC 24
	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 5.7	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p.17	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 3.1
肺	ML-TC 6.1	ML-TC 3.0	ML-TC 70
	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p.15.5	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p.135	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 6.5
盲腸		ML-TC 13.5	ML-TC 390
		ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 5.5	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 2.1
血清	ML-TC 2.0 mcg/ml	ML-TC 2.6	ML-TC 6.4
	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 1.3	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p.10.2	ML-TC+o.b. 50mg/kg,i.p. 2.1

て優る成績を示した。

(iv) ML-TC+Benecid 群と TC+Glucosamine 群との比較

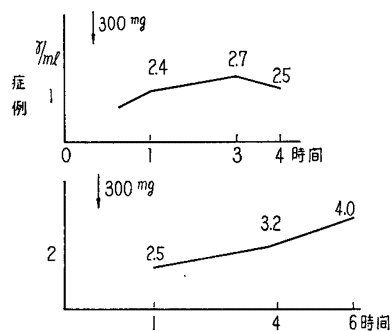
(ii) (iii) と同様の条件を与えて、上記両群についての比較を試みた成績では、第7表の如く TC+Glucosamine 群の方が、ML-TC+Benecid 群に比して全臓器内濃度が高いようであった。

(v) ML-TC 臓器内濃度におよぼす Oxyphenbutazone の影響

Oxyphenbutazone (o.b.) はステロイドホルモンに似た消炎作用が認められ、最近炎症性疾患に抗生剤と併用されている物質である。このものの併用が ML-TC の吸収排泄におよぼす影響を知ることは意味があると考え、て次の実験を行なった。

マウスに 500 mg/kg の o.b. を腹腔内注射し、15 分後に ML-TC を型の如く胃内投与して、無処置群と比較した。その成績は第8表の如くであり、o.b. 前処置群では無処置群に比し、臓器内移行が良好で早期に臓器内濃度が上昇し、とくに肺では無処置群を上廻る高値がえられた。

第7図 ML-TC 1回経口投与後の血中濃度



3. 300 mg 投与後 2時間 1.4 μ /ml
 4. 150 mg " 4時間 0.7 "
 5. 150 mg " 2時間 0.2 "

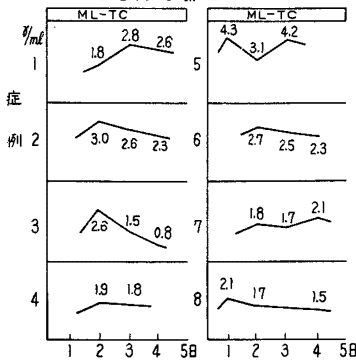
9. ヒトに経口投与時の血中濃度

(i) ML-TC 1回経口投与時の血中濃度

ML-TC 300 mg 力価を肝、腎機能に異常のない例に経口投与したときの血中濃度は、第7図の症例 1, 2 の如くで、症例 3, 4, 5 においては一時点のみの測定値を示す。比較的高い値がえられたと思われる。

(ii) ML-TC 連日投与時の血中濃度

第8図 ML-TC 1日150mg×4.5日間
経口投与時の血中濃度
毎日定時採血



思われた。

ML-TC 1日 600 mg (150 mg 宛 4 分服) 投与時に毎日定時(150 mg 投与後 4 時間目のところで)採血して検索した成績は第 8 図の如く、8 例について行なつたが、蓄積作用の現われのためか、かなり高値がえられた症例もあつた。全例赤痢患者でとくに肝、腎の疾患はない。

(iii) ML-TC と TC との Cross over による血中濃度の比較

健康者 2 例について 300 mg 力価を 1 週間間隔で経口投与して比較した。成績は第 9 図の如くで、ML-TC 投与時の方が 2 例とも血中濃度の上昇がすぐれていた。

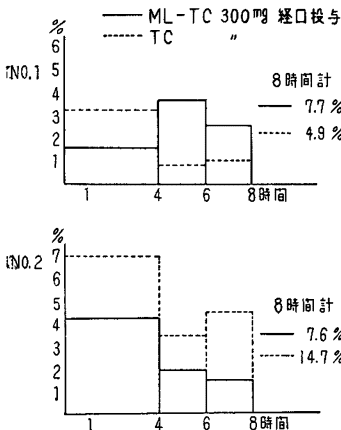
(iv) ML-TC 血中濃度におよぼす Oxyphenbutazone の影響

(iii)における健康者について、ML-TC 300 mg 投与時と 1 週間間隔で、o. b. 300 mg 3 日間経口投与した次の日に ML-TC 300 mg 投与を行なつて Cross over した。第 10 図の如く 4 時間後で採血測定した値は、o. b. 前処置時の方が幾分低値を示したが、o. b. 前処置時にはピークが早くなるのが臓器内濃度測定などから知られており、即断しがたいところである。

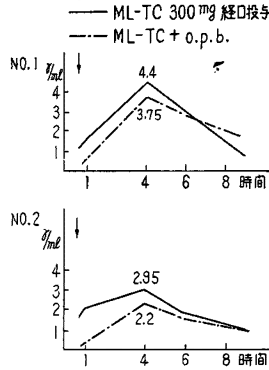
10. 尿中排泄

(i) ML-TC と TC との Cross over による尿中排

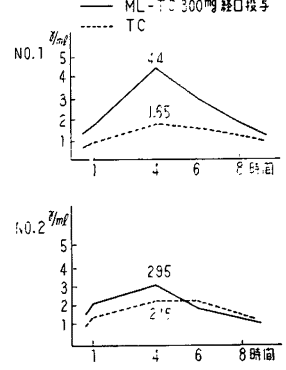
第11図 ML-TC と TC との Cross over による尿中排泄量



第12図 ML-TC 血中濃度におよぼす
Oxyphenbutazone の影響



第9図 ML-TCとTCとのCross over による血中濃度



第9表 ML-TC 投与時の胆汁内濃度
毎日 1.2 g 分 4 投与、当日朝休薬

症 例	胆 汁	濃 度 mcg/ml
1	A	0.4
	B	1.0
2	A	0.4
	B	0.5
	C	0.1 >
3	B	0.4

11. 胆汁内濃度

9. (iii)の実験において経口投与後 8 時間までの尿中排泄量を測定して比較したところでは、第 11 図の如くとくに一定の傾向は認められないようであつた。

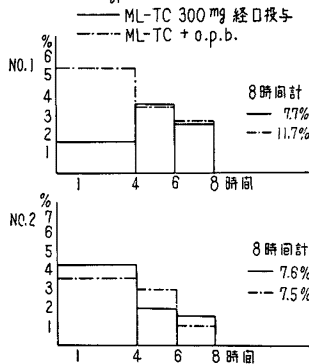
(ii) ML-TC 尿中排泄量におよぼす Oxyphenbutazone の影響

9. (iv)の実験において投与後 8 時間までの尿中排泄量を比較したところでは、第 12 図の如くであり、とくに o. b. の影響は明らかにみとめられなかつた。

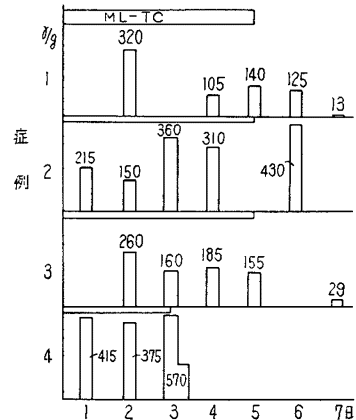
12. 胆汁内濃度

胆嚢疾患の症例に毎日 1.2 g 投与して来たところで、

第12図 ML-TC 尿中排泄量におよぼす
Oxyphenbutazone の影響



第13図 ML-TC 投与時の糞便内濃度
1日150mg×4 連日経口投与



当日朝休養して十二指腸ゾンデにより型の如く胆汁を採取して A, B, C 各胆汁について濃度を測定した。その成績は第 9 表の如くで、血中濃度のレベルに達しないようであった。

12. 糞便内濃度

1日 0.6 または 1.2 g を赤痢患者に 5 日間連日投与したときの糞便の一部を保存し、測定時 10 倍量の溜水に希釈し、煮沸遠沈して測定した。その成績は第 13, 14 図の如くで、日差、個人差が大きかったが、だいたい数百 mcg/g に達する高濃度のみとめられており、TC 耐性赤痢菌による赤痢にも時に効果が期待しようとも思われた。

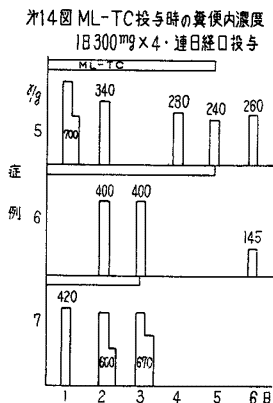
III. 考 察

ML-TC は TC の誘導体であつて、溶解度の高いこと、吸収のよいことをその特長として登場した抗生剤であり、著者の成績および第 12 回日本化学療法学会総会シンポジウムにおいて著者が担当した全国各地の研究機関からの成績の集計において、下記の如き成績が示されて、その評価がほぼ定まつたと思われる。

第 1 は各種細菌に対する感受性においては殆んど母体の TC と等しく、また殆んど完全な交叉耐性を有することであり、第 2 には、ML-TC 150 mg 力価投与が TC 250 mg 力価投与にほぼ匹敵する程度の血中濃度の上昇がみとめられることである。その外若干 TC と相違する性質も認められるようであつたが、大部分は TC と似た傾向を具えているものということが出来よう。これらの点からみれば、TC に関する種々の知見はそのまま ML-TC に適用され、TC 使用に際して要求される注意はまた ML-TC にもあてはまるものといえよう。

また ML-TC に関しては、イタリーの文献上、実験的感染症（マウスのレンサ球菌感染症）に対する効果が TC にまさること、TC に比して毒性が低く、LD₅₀ が大であること、心臓血管系、呼吸系に及ぼす影響が小であること、摘出臓器の薬剤反応に及ぼす影響のないこと、局所刺戟の TC より少いこと、摘出腸管よりの吸収性のよいことなどが報告されている。

著者の基礎的検討において、ML-TC は赤血球吸着性が TC より乏しく、血清蛋白親和性は TC より大であるなどの幾分の相違点がみられたが、これらが実際臨床に如何なる意義を有するかは決め難いところであり、例えば血清蛋白親和性が強いことはむしろ濃度の維持に役立



ち、よく運搬されて病巣に達し、可逆的に解離して抗菌力を発揮することも考えられよう。また MgSO₄ 液による実験における力価の低下は、Mg イオンとのキレート化合物形成のためであるとの証を欠いているが、*in vitro* においてかような成績を得たことから、生体内での変化の一端をうかがうこともできよう。

かように ML-TC は TC より出発した製剤として、たしかに一つの進歩と認めうる事が種々の見地から示されたが、臨床応用上の価値については一概に決め難く厳密な比較も困難であり、慎重な評価を必要とすると考えられる。

IV. 結 論

新しい TC 誘導体 TC-1-methylenelysine について生体内動態をうかがう手掛りとなる 2, 3 の基礎的検討を、TC と比較しつつ施行し、次の成績を得た。

1. 各種細菌に対する感受性は ML-TC と TC とで殆んど差を認めなかつた。
2. ML-TC と TC の間には完全な交叉耐性がみられた。
3. 赤血球吸着性は ML-TC の方が TC より幾分小であつた。
4. マウス肝臓によつては両者とも不活化をうけにくかつた。
5. 血清蛋白との親和性は ML-TC の方が大であつた。
6. MgSO₄ 液では等しく力価の低下するものを認めた。
7. マウス臓器内濃度の検索で、ML-TC では肝、腎の濃度が TC を上廻つた。TC に Fenecid を加えても影響なく、Glucosamine を加えると ML-TC 投与時の値を凌駕した。Oxyphenbutazone を ML-TC に加えると、早期に高濃度に達するようであつた。
8. ヒトに ML-TC 経口投与時の血中濃度測定では、連日投与によりかなりの高濃度を記録した。TC との Cross over テストを行なうと、ML-TC 投与時の方が血中濃度が上昇した。Oxyphenbutazone 投与では僅かに低値を示す如くであつた。
9. 尿中排泄量の比較では ML-TC と TC 投与間に明らかな差なく、Oxyphenbutazone の影響もはつきりしなかつた。
10. 胆嚢疾患患者の胆汁内濃度は私共の測定方法では比較的的低値に止つた。
11. 赤痢患者の糞便内濃度の測定では数百 mcg/g におよぶ高濃度をみとめた。

本論文の要旨は第 12 回日本化学療法学会総会シンポジウムにおいて発表した。

薬剤を提供された藤沢薬品に対して感謝する。